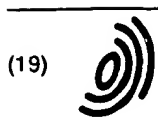


BY



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) EP 0 707 847 A1

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:  
24.04.1996 Patentblatt 1996/17

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: A61K 9/127, A61K 31/19

(21) Anmeldenummer: 95115899.7

(22) Anmeldetag: 09.10.1995

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU MC NL  
PT SE

(30) Priorität: 20.10.1994 IT MI942142

(71) Anmelder: BAYER AG  
D-51368 Leverkusen (DE)

(72) Erfinder:  
• Ciceri, Silvana, Dr.  
I-22100 Como (IT)  
• Hamann, Hans-Jürgen, Dr.  
D-41539 Dormagen (DE)  
• Hümer, Ingrid  
D-40479 Düsseldorf (DE)  
• Kurka, Peter, Dr.  
D-40723 Hilden (DE)  
• Maasz, Joachim, Dr.  
Granger, IN 46530 (US)

(54) **Ketoprofen Liposomen**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft ein Ketoprofen-Liposomen-Gel und ein Verfahren zu seiner Herstellung, das sich durch eine einfache Darstellungsweise durch spontane Bildung von Liposomen aus Phospholipiden und Ketoprofen auszeichnet.

EP 0 707 847 A1

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Ketoprofen-Liposomen-Gel und ein Verfahren zu seiner Herstellung, das sich durch eine einfache Darstellungsweise durch spontane Bildung von Liposomen aus Phospholipiden und Ketoprofen auszeichnet.

Ketoprofen ist ein arzneilich wirksamer Stoff aus der Gruppe der Nicht-Steroidalen Antirheumatika vom Typ der Arylpropionsäuren. Die Nicht-Steroidalen Antirheumatika werden sowohl innerlich als auch äußerlich zur Therapie von Entzündungen eingesetzt, wobei insbesondere die lipophilen Vertreter dieser Wirkstoffklasse für die topische Applikation geeignet sind. Ein Problem der Applikation von Arzneistoffen ist die schlechte Penetrierbarkeit der Haut für viele Arzneistoffe, so daß oftmals die notwendigen therapeutischen Spiegel im Gewebe nicht erreicht werden. Daher wird vielfach versucht durch Einschluß der Wirkstoffe in Liposomen die Penetrierbarkeit ins Gewebe durch das Stratum-Corneum zu verbessern.

Liposomen werden aus Phospholipiden gebildet, die sich in einer oder mehreren konzentrischen Schichten zu kugelförmigen flüssig-kristallinen Partikeln zusammenlagern. Die Größe von Liposomen variiert je nach Herstellungsart und Typus von ca. 80 nm bis 100 µm. Man klassifiziert Liposomen durch ihre Größe und durch die Anzahl der Phospholipidschichten, wobei zwischen unilamellar und multilamellar, evtl. nur oligolamellar unterschieden wird.

Phospholipide sind amphiphile Substanzen, d.h. sie besitzen sowohl einen hydrophilen Molekülteil, meist einen mit einer quartären Ammoniumverbindung substituierten Phosphorsäureester und einen lipophilen Molekülteil der zumeist aus gesättigten und ungesättigten Fettsäuren besteht. Durch diese Eigenschaften besteht, wie bei allen Tensiden, die Tendenz sich in wäßrigen Systemen zu Assoziaten zusammenzulagern, um die Energie des Systems zu verringern. Phospholipide neigen dazu sich zu Doppelschichten zusammenzulagern, wobei die lipophilen Molekülteile zueinander orientiert sind und diese Doppelschichten durch wäßrige Kompartimente getrennt sind. Diese Doppelschichten können sich nun konzentrisch zu kugelförmigen Gebilden, Liposomen, anordnen. Liposomen bestehen entweder aus einer, oder mehreren Phospholipid-Doppelschichten, in die entweder hydrophile Substanzen in die wäßrigen Kompartimente, oder lipophile Substanzen in die Doppelschichten eingelagert werden.

Da die Phospholipide, aus denen Liposomen gebildet werden, zum Teil den physiologischen Membrantlipiden und Lipidsubstanzen der Hornhaut entsprechen oder diesen sehr ähnlich sind, wird insbesondere topischen Liposomen eine größere Penetrationsfähigkeit durch die Haut zugesprochen. Dies trifft insbesondere für entzündete Haut zu, in die Liposomen gut eindringen können (H.E. Junginger et al, Cosm. Toiletr., 45-50, 1991).

Niosomen sind Vesikel von derselben Struktur wie die Liposomen, die jedoch aus nicht-ionischen Amphiphilen, wie mit Fettsäuren veretherter oder veresterter Polyoxyethylenen oder beispielsweise Fettsäure-Saccharosediestern gebildet werden.

Es wurden schon mannigfaltige Versuche gemacht Liposomenformulierungen auch von Nicht-Steroidalen Antirheumatika herzustellen, jedoch wird bei diesen Herstellungsverfahren immer mit einem hohen Energieaufwand gearbeitet, um eine ausreichende Partikelgröße zu erreichen oder es müssen organische Lösungsmittel oder Detergenzien eingesetzt werden, die im Anschluß aus der Formulierung wieder entfernt werden müssen. Ein Beispiel dafür bietet EP 0 249 561, worin Methoden und Zusammensetzung von Formulierungen in denen Nicht-Steroidale Antirheumatika in Liposomen eingeschlossen sind beschrieben werden. Das Patent beansprucht Liposomen zur oralen Anwendung und magensaftresistente Liposomen, das Herstellungsverfahren zur Darstellung dieser Liposomen entspricht jedoch den üblichen Methoden, d.h. die Phospholipide werden in einer organischen Phase gelöst, die im Anschluß wieder entfernt werden muß.

Übliche bekannte Herstellungsmethoden für Liposomen seien kurz aufgeführt:

#### 1. Hydrationsmethode

Ein Phospholipidgemisch wird in einem Glaskolben eingedampft, so daß sich ein dünner Lipidfilm an der Wandung ausbildet. Dieser Film wird dann mit einer Pufferlösung befeuchtet und geschüttelt, wobei sich spontan Liposomen ausbilden. Kritische Parameter bei diesem Prozeß sind die Lipidfilmdicke, das Volumen der Pufferlösung sowie die Dauer und Intensität der Bewegung. Die hierbei entstehenden, meist multilamellaren Liposomen können durch Ultraschall oder die sogenannte French Press noch weiter verkleinert werden.

#### 2. Ultraschallmethode

Die Phospholipide werden in Wasser dispergiert und danach durch mechanische Belastung, in diesem Falle Ultraschall zerkleinert. Alternativ können die Liposomen auch durch Druckbelastung in einem geeigneten Extruder (French Press) aus Dispersionen dargestellt werden.

#### 3. Lösungsmittel-Injektionsmethode

Die Phospholipide werden in einem geeigneten organischen Lösungsmittel gelöst (Ether, Methanol und Gemische) und diese Lösung in warmes Wasser eingespritzt, in dem der einzuschließende Stoff gelöst vorliegt. Nach Abzug des Lösungsmittels im Vakuum bilden sich zumeist unilamellar Vesikel aus.

## 4. Detergenzien-Methode

Eine wäßrige Mischmizellösung aus Phospholipiden, einem Detergenz und der einzuschließenden Substanz wird hergestellt und das Detergenz im Anschluß durch Dialyse, Säulenchromatographie oder andere geeignete Verfahren abgetrennt.

## 5. Reverse Phase Evaporation Method

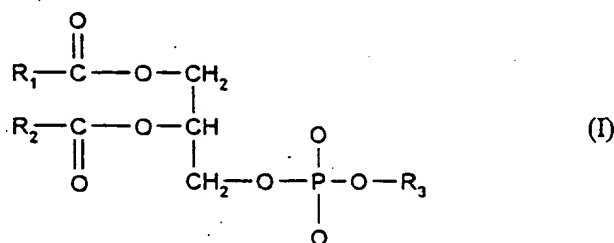
Im Überschuß der organischen Phase wird mit einem Puffer, den Phospholipiden und den einzuschließenden Substanzen eine Wasser-in-Öl-Emulsion hergestellt und dann die organische Phase im Vakuum abgedampft. Am Ende des Verdampfungsvorgangs kommt es zu einer Phasenumkehr und es bildet sich eine Suspension von großen unilamellaren Liposomen.

Diese Methoden sind in ihrer technischen Durchführung alle, entweder bei mechanischer Darstellung der Liposomen mit einem hohen Energieaufwand, oder bei den Methoden mit Lösungsmitteln oder Detergenzien mit einem hohen Reinigungsaufwand des Produktes, verbunden. Es besteht daher der Wunsch nach einer einfachen Darstellung solcher Systeme.

Überraschend wurde gefunden, daß sich Ketoprofen-Liposomen äußerst einfach durch Mischen von Ketoprofen mit Phospholipiden bei pH-Werten über 6, vorzugsweise 6 bis 8, und anschließende pH-Senkung auf Werte unter 6, vorzugsweise 4 bis 6, darstellen lassen. Das Natriumsalz des Ketoprofens besitzt durch die deprotonierte Carboxylgruppe amphiphilen Charakter und lagert sich mit den Phospholipiden zusammen und es entstehen Mischmizellen aus dem eingesetzten Phospholipid und dem Ketoprofen-Salz. In diese Mischmizellen ist die noch vorliegende freie Säure, das Ketoprofen, inkorporiert. Bei Verdünnung dieser alkalischen Mischmizellösung mit einer geeigneten Pufferlösung senkt sich der pH-Wert der Lösung auf einen Wert unter 6, der Anteil des deprotonierten Ketoprofens verringert sich. Dadurch wird die Mischmizellmembran destabilisiert und es kommt zur spontanen Bildung von Liposomen. Entscheidend ist dabei insbesondere, daß nicht wie bei vielen anderen Herstellungsverfahren für Liposomen mit organischen Lösungsmitteln (reverse phase evaporation method) oder Detergenzien, die aus der Formulierung entfernt werden müssen (Detergent removal method) oder energieaufwendigen Zerkleinerungsmethoden (Hydration method, sonication method, French press etc.) gearbeitet werden muß. Die Formulierung enthält sowohl das entsprechende Salz des Ketoprofens, als auch die freie Säure, das Ketoprofen. Die Partikelgrößen liegen im Bereich von 80 bis 200 nm.

Geeignete Phospholipide sind die natürlichen Phospholipide, Sphingolipide, Glycosphingolipide, sowie synthetische Phospholipide wie Dipalmitoylphosphatidylcholin-, -serin-, -ethanolamin-glycerol oder die entsprechenden Ölsäureester dieser Verbindungen.

Besonders geeignet sind natürliche und synthetische Phospholipide, die der allgemeinen Formel (I)



entsprechen sowie deren Mischungen, wobei R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> Alkylreste und/oder einfach- bis vierfach ungesättigte Alkenylgruppen mit 10 bis 23, vorzugsweise 13 bis 21 C-Einheiten bedeuten und R<sub>3</sub> aus der folgenden Gruppe stammt:

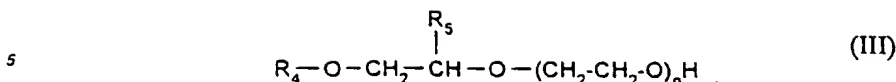
- OH,
- CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>,
- CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub><sup>+</sup>,
- CH<sub>2</sub>CHNH<sub>3</sub><sup>+</sup>COO<sup>-</sup>,
- CH<sub>2</sub>CHOHCH<sub>2</sub>OH,
- HC<sub>8</sub>H<sub>5</sub>(OH)<sub>5</sub>.

Geeignete nicht-ionische Amphiphile sind vor allem mit Fettsäuren veresterte oder veretherte Polyoxyethylene und Saccharosediester, die zur Bildung von Niosomen geeignet sind.

Bevorzugte nicht-ionische Amphiphile sind Verbindungen der Formeln



und



wobei  $R_4$  und  $R_5$  gleich oder verschieden sind und jeweils für Alkyl oder Alkenyl mit 12 bis 16 C-Atomen stehen und  $n$  für eine Zahl von 3 bis 25 steht.

Geeignete Gelbildner sind die dem Fachmann bekannten Hydrogelbildner, wie derivatisierte Cellulosen, Polyvinylpyrrolidone, Polyacrylate und andere synthetische Hydrokolloide, sowie natürliche Gelbildner wie Agar, Gummen, Glykane, Alginat, Gelatine und andere Polysaccharid- und Protein-Hydrokolloide und Blockcopolymere des Polyoxyethylens und Polyoxypropylens.

Als übliche Hilfsstoffe seien insbesondere genannt Konservierungsmittel, Antioxidantien, Farbstoffe und andere Stoffe die zur mikrobiellen und chemischen Stabilisierung der Formulierung dienen.

Erfindungsgemäße Ketoprofen-Liposomen-Gele werden z.B. durch Einarbeiten von Ketoprofen-Phospholipid-Mischmizellen in bestimmte Hydrogele hergestellt. Dazu wird zunächst Ketoprofen in 1N-NaOH-Lösung gelöst und in diesem Medium durch Einarbeiten eines Phospholipids, insbesondere der Formel (I) eine Mischmizelldispersion hergestellt. Geeignete Phospholipide sind natürliche und synthetische Phospholipide, die ungesättigte und gesättigte Fettsäuren enthalten können (Beispiele: Phospholipon®90, Lipoid®E 80, Lipoid® E 100, Lipoid® S 100, Lipoid® E PC, Epikuron® 200 SH).

#### Ausführungsbeispiele

##### Beispiel 1

Herstellung der Mischmizelllösung

Ketoprofen	18,62 g
Phospholipon®90	17,11 g
1N-NaOH-Lösung	100,0 g

Ketoprofen wird in der Natronlauge gelöst. Anschließend wird die Lösung auf 90°C erhitzt, und das Phospholipid darin über 90 Minuten dispergiert. Es entsteht eine klare gelbe Mischmizelldispersion mit einem pH-Wert über 6.

Die Mischmizelllösung wird in folgendes Hydrogel eingearbeitet:

Lutrol® F 127	18,00 %
Pufferlösung pH 5	63,58 %
Cremophor® RH 40	5,00 %
Mischmizelldispersion	13,42 %

Durch das Verdünnen der Mischmizelllösung mit dem Hydrogel bildet sich ein stabiles Ketoprofen-Liposomen-Gel. Die Konzentration von Ketoprofen im Gel beträgt 2,5 %.

**Beispiel 2**

Die Mischmizellösung aus Beispiel 1 wird in folgende Hydrogel eingearbeitet:

Polyacrylsäure	1,00 %
Pufferlösung pH 5	80,33 %
Cremophor® RH 40	5,00 %
Mischmizelldispersion	13,42 %

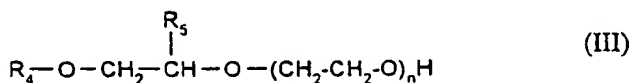
Durch das Verdünnen der Mischmizellösung mit dem Hydrogel bildet sich ein stabiles Ketoprofen-Liposomen-Gel.  
Die Konzentration von Ketoprofen im Gel beträgt 2,5 %.

**Patentansprüche**

- Verfahren zur Herstellung von Ketoprofen-Liposomen, dadurch gekennzeichnet, daß eine Mischung von Ketoprofen und Phospholipiden oder nicht-ionischen Amphiphilen in eine Lösung mit einem pH-Wert von 6 bis 8 gegeben wird und in dieser Lösung anschließend der pH-Wert auf Werte unter 6 abgesenkt wird, wobei es zur spontanen Bildung von Liposomen kommt, welche gegebenenfalls mit üblichen Hilfsstoffen in halbfeste und flüssige Zubereitungen überführt werden.
- Verfahren zur Herstellung von Ketoprofen-Liposomen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man als nicht-ionische Amphiphile Verbindungen der allgemeinen Formeln (II) bzw. (III) einsetzt

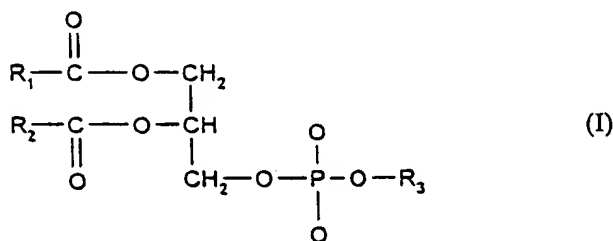


und



wobei  $R_4$  und  $R_5$  gleich oder verschieden sind und jeweils für Alkyl oder Alkenyl mit 12 bis 16 C-Atomen stehen und  
 $n$  für eine Zahl von 3 bis 25 steht.

- Arzneizubereitungen enthaltend Ketoprofen-Liposomen die aus Phospholipiden der allgemeinen Formel (I)



wobei  $R_1$  und  $R_2$  Alkylreste und/oder einfach- bis vierfach ungesättigte Alkenylgruppen mit 10 bis 23, vorzugsweise 13 bis 21 C-Einheiten bedeuten und  $R_3$  aus der folgenden Gruppe stammt:

-OH,  
-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>,  
-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub><sup>+</sup>.

-CH<sub>2</sub>CHNH<sub>3</sub><sup>+</sup>COO<sup>-</sup>,  
-CH<sub>2</sub>CHOHCH<sub>2</sub>OH,  
-HC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(OH)<sub>5</sub>.

5 sowie deren Mischungen und Ketoprofen und/oder Ketoprofen-Natriummischmizellen und gegebenenfalls weiteren  
üblichen Hilfsstoffen aufgebaut sind.

4. Arzneizubereitungen gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Ketoprofen-Liposomen in Hydrogele  
eingearbeitet sind.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55



Europäisches  
Patentamt

## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 95 11 5899

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
X	GB-A-2 041 871 (FARMITALIA CARLO ERBA S.P.A.) * Seite 2; Beispiel 2 *	3,4	A61K9/127 A61K31/19
P,A	JOURNAL OF MICROENCAPSULATION, Bd. 12, Nr. 4, Juli 1995 LONDON (GB), Seiten 401-407, XP 000510960 C.P. JAIN ET AL. 'PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF NIOSOMES CONTAINING RIFAMPICIN FOR LUNG TARGETING' * Seite 401, Absatz 4 *	2	
A	EP-A-0 056 781 (WEDER ET AL.) * Seite 24; Beispiel 4 *	1,2	
A	DIE PHARMAZIE, Bd. 49, Nr. 2/3, Februar 1994 ESCHBORN (DE), Seiten 187-191, XP 000425029 K. KRIWET ET AL. 'MUTUAL INTERACTIONS BETWEEN DICLOFENAC DIETHYLAMINE AND PHOSPHOLIPIDS- INVESTIGATIONS ON THE MICROSTRUCTURE OF THE ARISEN SYSTEMS' * das ganze Dokument *	1,2	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
			A61K
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenamt DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 19. Januar 1996	Prüfer Benz, K
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument A : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 (01.12.1994) (P04C03)